



北海道大学  
HOKKAIDO UNIVERSITY



公立大学法人  
福井県立大学  
Fukui Prefectural University



## PRESS RELEASE (2014/11/25)

北海道大学総務企画部広報課  
〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目  
TEL 011-706-2610 FAX 011-706-2092  
E-mail: kouhou@jimuhokudai.ac.jp  
URL: <http://www.hokudai.ac.jp>

# 多様なペプチドのアミノ末端をキャッピングする酵素を発見

### 研究成果のポイント

- ・種々のペプチド<sup>1)</sup>のアミノ末端<sup>2)</sup>に非タンパク性のアミノ酸をペプチド結合する新規酵素を発見。
- ・有用生理活性ペプチドの保護や新規抗結核薬の開発に期待。

### 研究成果の概要

医薬品として生理活性ペプチドを使用する場合の欠点の1つは、ペプチド分解酵素による分解があげられます。ヒトでは特にペプチド末端に作用するエキソ型のペプチダーゼ<sup>3)</sup>が主要な分解を担っていることから、ペプチド末端を非タンパク性アミノ酸<sup>4)</sup>に置き換えて分解酵素から保護することは医薬品開発の観点から価値があります。今回、ペプチド系抗生物質、フェガノマイシンの生合成研究を行った結果、2~18 アミノ酸からなる多様なペプチドのアミノ末端を非タンパク性アミノ酸であるフェニルグリシン誘導體でキャッピング（修飾）する酵素を見出しました。この幅広い基質特異性を理解するため、酵素の結晶構造を解いた結果、本酵素は他には見られない大きな基質<sup>5)</sup>を結合できる部位を有していることが判明し、これにより多様な基質を受入れ可能であることが明らかとなりました。

本研究は、科学研究費（新学術領域 生合成マシナリー：課題番号 23108101, 25108710 及び挑戦的萌芽研究：課題番号 25560397）の助成により実施されました。

### 論文発表の概要

研究論文名：A peptide ligase and the ribosome cooperate to synthesize the peptide pheganomycin.

（ペプチドリガーゼとリボソームによる協調的ペプチド生成機構の発見）

著者：氏名（所属）野池 基義<sup>a</sup>、松井 崇<sup>b</sup>、雄谷 洸一<sup>a</sup>、佐々木 郁雄<sup>a</sup>、大瀧 翔太<sup>b</sup>、濱野 吉十<sup>c</sup>、丸山 千登勢<sup>c</sup>、石川 淳<sup>d</sup>、佐藤 康治<sup>a</sup>、伊藤 肇<sup>a</sup>、森田 洋行<sup>b</sup>、大川 徹<sup>a</sup>（<sup>a</sup>北海道大学、<sup>b</sup>富山大学、<sup>c</sup>福井県立大学、<sup>d</sup>国立感染症研究所）

公表雑誌：Nature Chemical Biology

公表日：日本時間（現地時間）2014年11月25日（火）午前1時（英国時間 11月24日 午後4時）

## 研究成果の概要

### (背景)

医薬品として生理活性ペプチドを使用する場合の欠点の1つは、ペプチド分解酵素による分解があげられます。ヒトでは、エキソ型のペプチダーゼがペプチドの末端に存在するタンパク性アミノ酸に作用し構成単位であるアミノ酸への分解を開始することから、ペプチド末端のアミノ酸を非タンパク性アミノ酸に置き換えれば分解酵素からペプチドを保護できます。これまでに、ノンリボソーマルペプチドシンセターゼ<sup>6)</sup>(NRPS)酵素が非タンパク性アミノ酸を導入する機構として知られていましたが、酵素が巨大であり応用が困難でした。また、有機合成的に末端を修飾する方法もありますが工程数が多く実用的ではありませんでした。

### (研究手法と成果)

このような背景下、大和教授らの研究グループは放線菌が生産するペプチド系抗生物質、フェガノマイシンの生合成研究を行い、リボソームで供給された前駆体ペプチド由来の2つのペプチド(NVKDRとNVKDGPT)のアミノ末端に、非タンパク性型アミノ酸であるアミジノ化フェニルグリシン類を付加するペプチドリガーゼ<sup>7)</sup>を見出しました(図1)。本酵素はペプチドを基質に用いる初めてのドリガーゼであり、リボソームとペプチドリガーゼが協同でペプチドの基本骨格を形成する初めての例でもあります。

見出したペプチドリガーゼの基質特異性を調べた結果、興味深いことに、フェガノマイシンとは関連の無い、人工甘味料であるアスパルテームや昆虫由来の18アミノ酸からなる抗菌ペプチドのアミノ末端も修飾可能であることがわかりました。このことから、本酵素は、NVKDRとNVKDGPTとは異なる多様なペプチドにもアミジノ化フェニルグリシンを付加できることが分かり、有用ペプチドの分解酵素からの保護に使える可能性が示されました。

### (今後への期待)

ペプチドのアミノ末端修飾機構として、これまでにホルミル化(アルデヒド基を導入する反応)、アセチル化(アセチル基を導入する反応)など比較的小さな官能基による修飾が知られていましたが、ペプチドリガーゼを用いて比較的大きな非タンパク性アミノ酸であるアミジノ化フェニルグリシンで有用なペプチドのアミノ末端をキャッピングすれば、ペプチド分解酵素による分解に対してより安定になると予想されます。さらに本方法は少ない作業工程数で末端修飾が可能であることから、分解に対して安定なペプチド系抗生物質等を低コストで生産できる可能性があります。

別の用途として、本酵素を用いてペプチドのアミノ末端を安定同位体で標識化することによる、質量分析器(MS)を用いたプロテオミクス定量解析のための内部標準作成にも利用可能であると考えられます。さらにフェガノマイシンに代表される、水酸化アミジノ化フェニルグリシンをペプチドのアミノ末端に持つ化合物は抗結核活性を有することから、本酵素を利用して得られる種々の誘導体を探索することにより、より高活性の抗結核薬を開発できる可能性もあります。

## お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院工学研究院 教授 大和 徹(だいに とおる)

TEL：011-706-7815 FAX：011-706-7118 E-mail：dairi@eng.hokudai.ac.jp

ホームページ：http://www.eng.hokudai.ac.jp/labo/tre/ABCLab\_jp/

所属・職・氏名：富山大学和漢医薬学総合研究所 教授 森田 洋行（もりた ひろゆき）  
TEL：076-434-7625 FAX：076-434-5059 E-mail：hmorita@inm.u-toyama.ac.jp  
ホームページ：http://www.inm.u-toyama.ac.jp/napc/index.html

**[用語解説]**

- 1) ペプチド：アミノ酸が数個から数十個，ペプチド結合しているタンパク質。
- 2) アミノ末端：ペプチド（タンパク質）が持つ2つの末端のうち，アミノ基が存在する側（反対はカルボキシル末端）。
- 3) エキソ型のペプチダーゼ：タンパク質やペプチドの末端から分解する酵素。
- 4) 非タンパク性アミノ酸：タンパク質合成に用いられないアミノ酸。
- 5) 基質：酵素が作用する化合物。今回の場合は，種々のペプチドとアミノ化フェニルグリシン。
- 6) ノンリボソーマルペプチドシンセターゼ（NRPS）：  
ペプチド合成機構として，遺伝暗号に従ってリボソームにより合成される機構が一般的であるが，微生物の中には二次代謝産物を生成する機構として，それらとは全く異なる機構で生合成する例もよく知られており，リボソーム非関与であることから，non-ribosomal peptide synthetase（NRPS）と総称されている。
- 7) リガーゼ：アデノシン三リン酸など高エネルギー化合物の加水分解に共役して基質を結合させる酵素類。

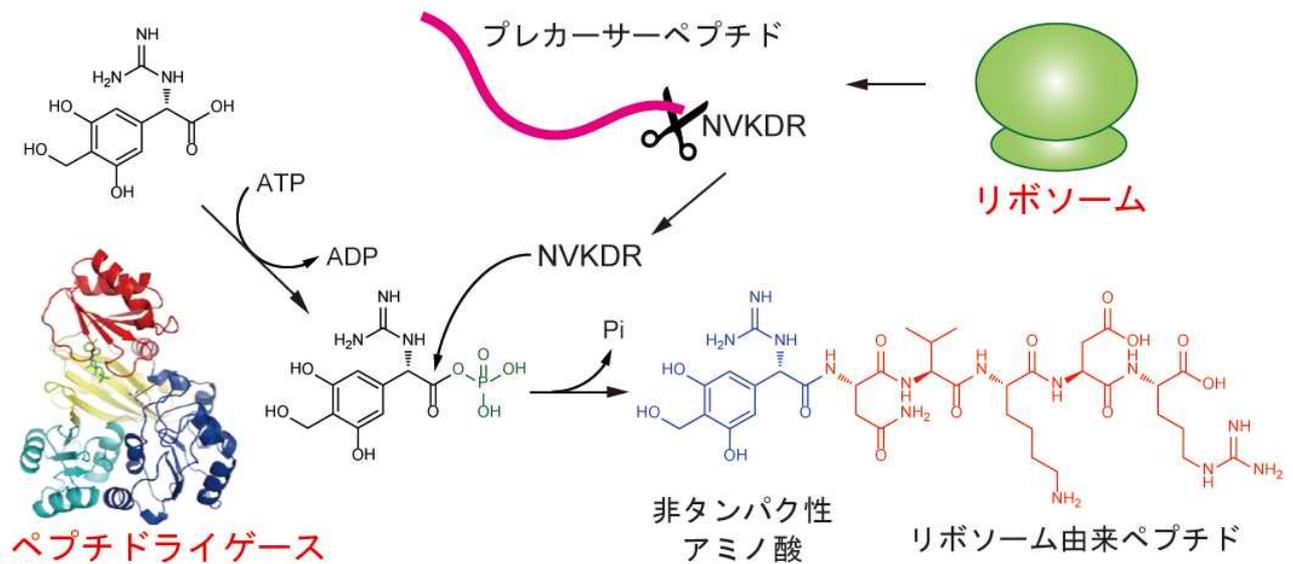


図1：新規ペプチドライゲースが触媒する反応

新規ペプチドライゲースは（結晶構造を左下に記載），非タンパク性アミノ酸であるアミジノ化フェニルグリシン（青で示す）のカルボキシル末端を，アデノシン三リン酸（ATP）由来のリン酸基（緑で示す）で活性化し（同時にアデノシン二リン酸（ADP）を遊離），次いでリボソームで供給されたプレカーサー（前駆体）ペプチド由来の2つのペプチド（NVKDR：赤で示した部分，NVKDGPT）が結合する反応を触媒することを見出した。さらに本酵素は，NVKDRとNVKDGPTとは異なる多様なペプチドにもアミジノ化フェニルグリシンを付加できることが分かり，有用ペプチドの分解酵素からの保護に使える可能性が示された。